

Cellulózbontó gombák hatása néhány mikroorganizmus, valamint a *Canavalia ensiformis* hüvelyes növény növekedésére

SZEGI JÓZSEF és RODRIGUEZ MARIA

MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete, Budapest és Kubai Tudományos Akadémia Talajtani Intézete, La Habana

A talajmikrobiológiai irodalomban számos kísérleti adat tanúskodik arról, hogy a különböző mikroszervezetek anyagcseretermékei felhalmozódhatnak a talajban s döntő mértékben befolyásolhatják nemcsak a mikroorganizmus asszociációk kialakulását, hanem közvetlen hatást gyakorolhatnak a benne termesztett növények élettani folyamataira is. A talajban kimutatható mikrobiális produktumok serkenthetik vagy gátolhatják a különböző mikroorganizmus csoportok növekedését. Az anyagcseretermékek biokémiai analízise során megállapították (BERSOVA [2], SZMALIJ és BERSOVA [22], EMMANILOV [3], KRASZIL'NIKOV [8], PÁNTOS [13], GHEORGHIU és MANUCA [4], SZEGI és TIMÁR [21] stb.), hogy azok számottevő mennyiségben tartalmaznak különböző aminosavakat, vitaminokat, heteroauxint, giberellin savat, valamint egyéb serkentő anyagokat. Ugyancsak széles körben ismert a mikroszervezetek antibiotikum produkciója, s mivel ezen anyagok gyógyászati jelentősége rendkívül nagy, az elmúlt két évtized során az antibiotikumok százait identifikálták a mikroorganizmusok kultúráiból.

A talajban élő mikroszervezetek túlnyomó többsége heterotróf, azaz széntáplálékukat a növényi maradványok, valamint a talaj humuszanyagai alkotják. PARKER—RODES [14], SCHMIDT és STARKEY [17], KRASZIL'NIKOV [9], PEJVE [15], valamint saját vizsgálataink [18, 20] eredményei arra mutatnak rá, hogy a talajba vitt növényi anyagok fokozzák a mikrobiológiai tevékenységet és ennek eredményeképpen növekszik a különböző serkentő anyagok mennyisége is. Más szerzők (GOTTLIEB [5], GROSSBARD [6, 7], KRASZIL'NIKOV [8], KORENJAKO, ARTAMONOVA és LETUNOVA [10] stb.) megfigyelései azt látszanak igazolni, hogy a különböző organikus anyagoknak a talajba vitele fokozza a benne kimutatható antibiotikus anyagok mennyiségét.

A talajba kerülő növényi maradványok egyik legfontosabb frakciója a cellulóz, amelynek mennyisége a növény minőségétől és korától függően elérheti, sőt túl is haladhatja a szárazanyag 50%-át. A cellulóz mineralizációjában a mikroszervezetek mindhárom alapvető csoportja (baktériumok, actinomyeták és mikroszkopikus gombák) részt vesz, s tevékenységüknek döntő súlya van a különböző biotikus és antibiotikus anyagoknak a talajban történő szintézisénel. Ennek ellenére az irodalomban rendkívül kevés azon forrásmunkának a száma, amelyek a cellulózbontó mikroszervezetek anyagcseretermékeinek a különböző mikroszervezetekre gyakorolt hatásával kapcsolatosak.

Kísérleti rész

Jelen dolgozatunkban annak vizsgálatát állítottuk magunk elé célul, hogy cellulóztartalmú ásványi összetételű tápoldatban tenyésztett mikroszkópikus gombák anyagcseretermékei miként hatnak néhány igen elterjedt és a talajbiológiai folyamatok szempontjából fontos szerepet vivő mikroorganizmus szaporodására, valamint a *Canavalia ensiformis* hüvelyes növény magvainak csírázására. Az említett növény termesztése trópusi körülmények között elterjedt és a babhoz hasonló, de annál méreteiben nagyobb, fehérjédús magvait étkezésre és állati takarmányozásra használják.

A kísérletbevonat gombatörzseket a Kubai Köztársaság Matanzas tartományának egyik jellegzetes laterit talajából tenyésztettük ki. Az említett talajt — mint a kubai talajokat általában — legelőször BENETT és ALLISON [1] foglalták rendszerbe MARBUT [12] „series” rendszere alapján s leírásukban a *Truffin* család *Perico series*-ébe sorolták. A talajminta kémiai analízisét KLIMES SZMIK ANDOR és SZEBEŒNYI LAJOSNÉ az Instituto Nacional de Reforma Agraria (INRA) Talajtani Intézetének munkatársai végezték el, amiért ezúton is köszönetünket fejezzük ki. A kémia és fizikai vizsgálatok fontosabb adatait az 1. táblázatban mutatjuk be.

1. táblázat

A mikrobiológiai analízis céljára felhasznált talajminta legfontosabb kémiai és fizikai tulajdonságainak adatai

(1) Humusz %	(2) Össznitrogén %	(3) Felvehető nitrogén	P mg/100 g	P ₂ O ₅	K ₂ O	pH	
				%		vizes	KCl-es
3,40	0,20	0,006	1,48	0,13	0,27	7,0	5,7

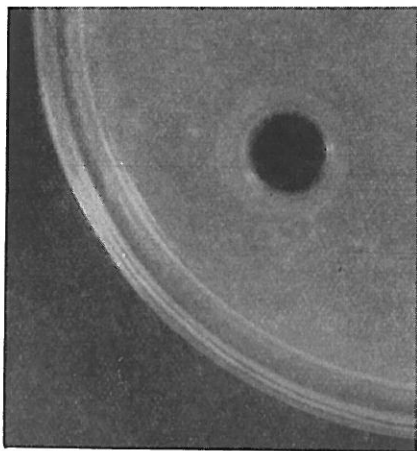
(4) Higroszkóposság	(5) Kötöttség	(6) Hidrolitos aciditás	(7) Nedvesség tart. %	(8) Porozitás %	(9) Természetes vízkapacitás %
7,00	69	14,0	31,2	52,7	31,9

A kísérletbevonat törzseket a fenti talaj felső 30 cm-es rétegéből Czapek és burgonya-agar táptalajon izoláltuk. A kitenyésztett és morfológiai sajátosságait tekintve egymástól eltérő 40 gombatörzs közül 22 növekedett ásványi összetételű tápoldattal átitatott és szilikagél lemezre helyezett szűrőpapír felületén. A továbbiakban megállapítottuk a törzsek cellulóz-bontó aktivitását. E célból 250 ml-es Erlenmeyer lombikokba 1 — 1 g felaprított és abszolút szárazra kiszáritott szűrőpapírt mértünk be, majd az egyes tenyészlombikokba 50 ml-t pipettáztunk az alábbi összetételű táptalajból: NH₄NO₃ 2 g, MgSO₄ 1,0 g, NaCl 1 g, 1 liter kiforralt vezetéki vízre számítva. A lombikok tartalmát 50—50 ml Sörensen-féle foszfátpufferrel egészítettük ki 100 ml-re, amely ilyen-

képpen 1%-nyi cellulózt tartalmazott. A tápoldatot sterilizálás után a kísérletbevont 22 gombatörzs 1 hetes tenyészetének spóraszuszpenziójával, illetve bomló cukornádlevél darabkával oltottuk be és 100 napon át 30° C-os hőmérsékleten inkubáltuk. Az időközben elpárolgott nedvességet steril desztillált víz hozzáadásával pótoltuk. Az inkubáció befejezése után a visszamaradt szűrőpapírt elválasztottuk a tenyészfolyadéktól, majd az utóbbit Seitz EK szűrőlapon át történő filtrálással hideg úton sterilizáltuk, hogy ezáltal csökkentsük a hatóanyagok esetleges inaktivációját, amelyet a hővel történő sterilizálás idéz elő.

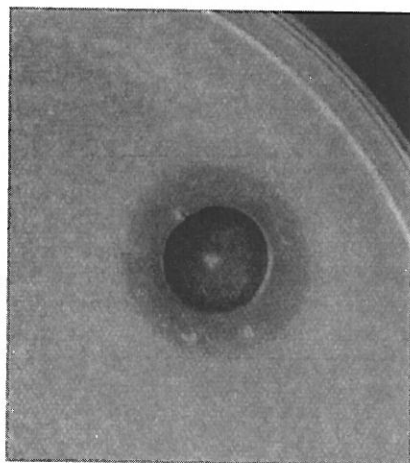
Ezután lyukpróba módszerrel azt vizsgáltuk, hogy az anyagcsere termékeket tartalmazó szűrletek miként hatnak egy *Azotobacter chroococcum* törzs, 8 pillangósvirágú növény gyökérgumóiból kitenyésztett rhizobium törzs, valamint a *Chlorella pirenoidosa*, *Raphidium convolutum* és *Stichococcus sp.* algatörzsek növekedésére. A baktériumok a Kubai Tudományos Akadémia Talajtani Intézete Mikrobiológiai Osztályának törzsgyűjteményéből származnak, az algákat pedig a KTA Biológiai Intézete Alga Osztályának vezetője volt szíves kísérletek céljára átadni. Mind a baktériumokat, mind pedig az algákat a Kubai Köztársaságban izolálták.

A vizsgálataink során alkalmazott lyuk-teszt módszer lényege abban áll, hogy a teszt-organizmus sejtek szuszpenziójának 1 ml-jét steril Petri-csészebe bepipettáztuk, majd 20 ml 45° C-ra lehűtött még folyékony állapotban levő agaros táptalajt öntöttünk rá, amellyel a sejtsuszpenziót egyenletesen összekevertük. A Petri-csésze fenekén levő agarlemez megszilárdulása után abból steril körülmények között kivágtunk 4 db. 10 mm átmérőjű korongot, majd az így kapott lyukakba steril pipettával bevittük a szűrlet aliquot mennyiségeit, azaz esetünkben minden egyes lyukba 0,1 ml filtrátumot mérünk be. Az agarlemezbe difundáló szűrlet aktív anyagai amennyiben hatnak az előzőleg belekevert mikroszervezetek szaporodására, hatásuk az inkubációs



1. ábra

Cellulózbontó gombák produktumainak serkentő hatása a №. 1. rhizobium törzssre



2. ábra

Cellulózbontó gombák produktumainak gátló hatása az *Azotobacter chroococcum* № 12-es törzsszel szemben

idő után a lyuk körül serkentő, vagy gátló zóna alakjában jelentkezik (1 és 2. ábra). Az *azotobacter* és *rhizobium* teszteket tartalmazó Petri-csészéket 48 órán át inkubáltuk 30° C-os termosztátban, míg az alga-teszteket tartalmazó tenyészeteket a laboratórium egy világos helyén 10 napon át tartottuk. A serkentés és a gátlás mértékét három pontos értékeléssel értékeltük, s ennek jelölésére plusz, illetve mínusz jeleket alkalmaztunk a serkentés, vagy gátlás erősségétől függően. Kontrollként szolgáltak azok a tenyészetek, amelyeknél szűrlet helyett steril tápoldatot mértünk a lyukakba. A vizsgálatok eredményei a 2. és 3. táblázatokból elemezhetők ki.

A mikrobiológiai irodalomban több szerző arról közöl adatokat, hogy egyes mikroorganizmusok anyagcseretermékei serkentik, mások pedig gátolják a magasabbrendű növények magvainak csírázását. KRASZIL'NIKOV [9] szerint serkentő hatást elsősorban a spórátlan baktériumok metabolitikumai váltanak ki, míg gátló hatást főleg a spórás fajok anyagcseretermékei okoznak. POPOVA [16] megállapította, hogy a *Pseudomonas sinuosa* serkentő hatást gyakorol a szőlőmagvak csírázására. SZEKI és GULYÁS [19] arról közölnek adatokat, hogy a cellulózbontó sugárgombák anyagcseretermékei különbözőképpen hatnak a lucernamagvak csírázására.

A fentiekből kiindulva kísérletünk második részében azt tanulmányoztuk, hogy a kísérletbevonat 22 cellulózbontó mikroszkopikus gomba anyagcseretermékei miként hatnak a *Canavalia ensiformis* pillangós növény magvainak csírázására. Az említett növényt nemcsak azért választottuk kísérletünk tárgyává, mivel Kubában jelentős mértékben el van terjedve, hanem ebben szerepet játszott az is, hogy megfelelő vastagságú maghéjjal rendelkezik ahhoz, hogy a felületi sterilizálás ne tegyen kárt a mag csírázókéességében. A magvak sterilizálása azért vált szükségessé, mivel ellenkező esetben a csírázás folyamán a mag felületén élő mikroszervezetek, a kezelés céljából alkalmazott szűrlet biológiai inaktivációjával, illetve az általuk szintetizált anyagcseretermékek felhalmozásával veszélyeztették volna a kísérletek megbízhatóságát.

A gondosan kiválogatott egészséges magvak felületét 70%-os alkoholban sterilizáltuk. A magvakat 1 percig kezeltük alkohollal, majd steril desztillált vízzel többször átmostuk azokat. Csíráztatási kísérletekkel, valamint a magvaknak Czapek és húsagar táptalajra történő helyezésével ellenőriztük, hogy az egészséges magvak esetében az 1 perces sterilizálási idő tökéletes sterilizálást biztosít-e és nem ártalmas-e a csírázásra. Ugyanis beteg magvak esetében a maghéj alatt elhelyezkedő kórokozó mikroszervezeteket a fenti sterilizálási eljárással nem lehet elpusztítani s csíráztatás közben megfertőzik az egészséges magvakat is. A fenti módon kezelt magvakat 24 órán át a filtrátumban áztatuk, majd steril körülmények között Petri-csészében csíráztattuk nedves szűrőpapír korongon. 72 órás csírázási idő elteltével megmértük a csírák hosszát s 25 csírahossz átlagából vontunk le következtetéseket a szűrlet serkentő vagy gátló hatását illetően. A kapott adatokat kontrollhoz viszonyítottuk, azaz tenyésztetel be nem oltott tápoldatban áztatott magvak csíráinak hosszához. A kísérlet eredményei az 1. ábrából értékelhetők ki.

2. táblázat

A cellulózbontó gombák anyagesertermékeinek hatása néhány nitrogénkötő baktérium növekedésére

(1) A gombák megnevezése	(2) A tesztbaktériumok megnevezése						
	Azotobacter chroococcum №12	Rhizobium					
		japonicum	legumino- sarium	phaseoli	№1	B 41	meliloti
					№2		lateroides
Aspergillus sp. (№1)	0	0	0	0	0	0	0
Humicola sp. (№2)	-	0	0	0	0	0	+
Fusarium sp. (№3)	0	0	0	0	0	0	0
Verticillium sp. (№5)	+	0	0	0	+	0	0
Penicillium sp. (№6)	+	0	0	+	0	0	0
Trichosporium sp. (№7)	+	0	0	+	0	0	0
Verticillium sp. (№8)	0	0	+	+	0	0	+
Penicillium sp. (№9)	-	-	+	+	0	0	+
Penicillium sp. (№10A)	+	0	0	0	+	+	0
Trichothecium sp. (№12)	+	0	0	+	+	0	0
Triosphaeria sp. (№13)	0	0	0	+	0	0	0
Humicola sp. (№14)	0	0	0	+	0	0	0
Spicaria sp. (№21)	-	0	0	0	0	0	0
Penicillium sp. (№22)	-	+	0	0	0	0	+
Penicillium sp. (№24)	-	0	0	0	0	0	+
Penicillium sp. (№31)	-	0	0	0	-	0	+
Penicillium sp. (№32)	-	0	0	0	+	0	+
Penicillium sp. (№34)	-	0	+	0	+	0	0
Humicola sp. (№35)	0	0	+	0	+	0	0
Humicola sp. (№36)	0	0	0	0	0	0	0
Penicillium sp. (№37)	-	0	0	0	0	0	0
Humicola sp. (№38)	0	+	+	+	+	0	0
Bomló növényi részekével oltva	+	+	0	0	0	0	0

0 nincs hatás

— gátló zóna

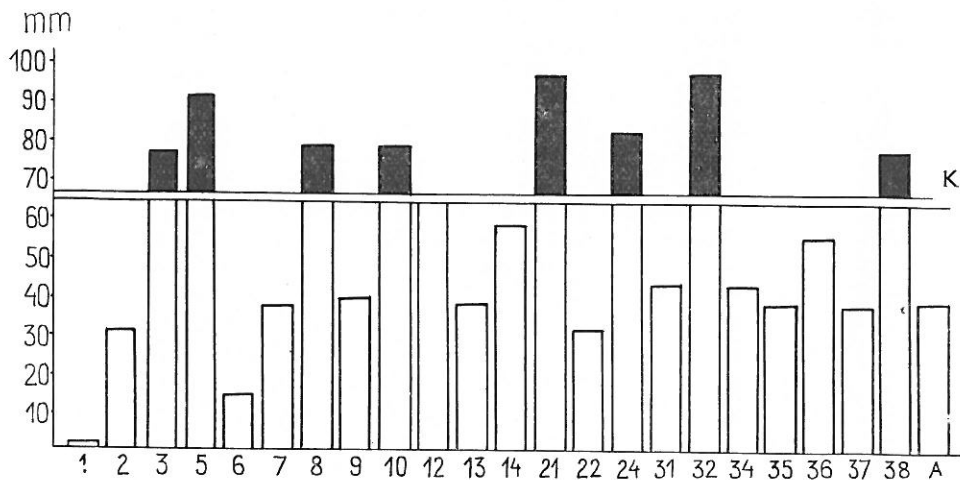
+ serkentő zóna

3. táblázat

**A cellulóz-bontó mikroszkopikus gombák anyagcseretermékeinek hatása
néhány algafaj növekedésére**

(1)		(2)		
A gombák megnevezése		Az algák megnevezése		
		Chlorella pyr. Sorok. 64/01.	Raphid. conv. Ram. 64/05.	Stichococcus sp. Kom. 64/116.
Aspergillus sp.	(№1)	---	---	---
Humicola sp.	(№2)	+	0	0
Fusarium sp.	(№3)	+	+	---
Verticillium sp.	(№5)	---	---	0
Penicillium sp.	(№6)	---	---	---
Trichosporium sp.	(№7)	0	---	---
Verticillium sp.	(№8)	0	0	0
Penicillium sp.	(№9)	---	---	---
Trichothecium sp.	(№10A)	0	+	0
Triosphaeria sp.	(№12)	0	0	0
Humicola sp.	(№13)	---	---	0
	(№14)	+	0	0
	(№21)	+++	+++	+++
Spicaria sp.	(№22)	---	---	---
Penicillium sp.	(№24)	++	++	0
	(№31)	0	---	---
	(№32)	+++	+++	+++
Penicillium sp.	(№34)	---	0	0
Humicola sp.	(№35)	0	---	---
Humicola sp.	(№36)	0	0	0
Penicillium sp.	(№37)	+	---	---
Humicola sp.	(№38)	++	+++	+
Bomló növényi részecskével oltva	A	---	0	0

+ = serkentés — = gátlás 0 = nincs hatás



3. ábra

A cellulóz-bontó gombák szűrleteinek hatása a Canavalia ensiformis magvainak csírázására. Füg. tengely: csíra hossza mm-ben. K = kontroll

Eredmények

A kísérletek adataiból látható, hogy a vizsgált mikroszervezetek a cellulóz elbontása során serkentő és gátló anyagokat választanak ki a tápközegbe, s ezeken keresztül befolyást gyakorolnak a különböző mikroorganizmusok szaporodására. Az esetek többségében a serkentő és a gátló hatás a különböző baktérium és algatörzsek esetében nem esik egybe az egyes alfafajok, sőt a *Rhizobium* genushoz tartozó egyes fajok, illetve törzsek is különböző érzékenységet tanúsítanak a szubsztrátum serkentő, illetve gátló anyagaival szemben.

A 3. táblázat és a 3. ábra adatai arra hívják fel a figyelmet, hogy a kísérletbevonat algák, valamint a *Canavalia ensiformis* hasonlóképpen reagálnak a szűrletek serkentő, vagy gátló anyagaira. Ez a megfigyelésünk alátámasztani látszik KOSAY HATA [11] adatait, aki nagyszámú magasabbrendű növényvel végzett vizsgálatai alapján kimutatta, hogy a mikroszervezetek anyagcseretermékeinek a *Chlorella* genushoz tartozó algák, valamint a magasabbrendű növények növekedésére gyakorolt hatása között olyan szoros korreláció áll fenn, hogy az algateszt módszer jól alkalmazható annak eldöntésére, hogy a kérdéses mikroszervezet anyagcseretermékei miként hatnak a magasabbrendű növényekre. Bár e kísérleteink során a tenyészfolyadék szűrlet serkentő és gátló anyagait nem identifikáltuk, azonban a korábbi vizsgálatok során [19] nem sikerült összefüggést kimutatni a cellulózbontó sugárgombák és mikroszkopikus gombák tenyészfolyadék szűrletének tiamin, pantoténsav, nikotinsav, piridoxin és biotin tartalma, valamint a serkentő zóna jelenléte között, azaz a szűrlet vitamintartalmának megfelelő mennyiségű vitaminkészítményt tartalmazó vizes vitamin oldatok nem váltottak ki azonos serkentő hatást. Feltételezhetően más anyagok váltják ki a mikroszervezetek intenzív szaporodását, amelyek ugyancsak a cellulóz elbontásának eredményeként halmozódnak fel.

A serkentő és gátló anyagoknak a szintézisét ugyanúgy, mint a mikroorganizmusok anyagcseréjének bármely láncszemét alapvető mértékben befolyásolják a környezeti feltételek. Talajviszonyok között részben a tápanyagok elégtelen volta, részben az optimális pH és nedvességtartalom igen gyakori hiánya, de nem utolsó sorban a különböző mikrocsoportok között fennálló konkurrencia viszonyok is kizárják olyan kedvező feltételek kialakulását a serkentő és gátló anyagok szintézisét tekintve, mint az monokultúrák esetében biztosítva van. Ezen kívül a képződő biotikus és antibiotikus anyagok is ki vannak téve az inaktiváció különböző formáinak.

A Kubai Köztársaságban a cukornád a legfontosabb termesztett növény, amely a mezőgazdasági művelésbe vett területnek több mint 50%-át foglalja el. Ennek az évelő növénynek a betakarításakor évről-évre hatalmas tömegű növényi maradvány marad vissza a talaj felszínén, amely egy vegetációs periódus alatt teljesen mineralizálódik. Feltételezhető, hogy a mineralizáció folyamán ugyancsak képződnek különböző mikrobiális eredetű produktumok, amelyek befolyásolják a talajokban végbemenő biológiai folyamatokat, sőt hatást gyakorolhatnak a mikrobiális oltóanyagok érvényesülésére is a pillangós növények vetésekor.

A fenti vizsgálatokat a Kubai Tudományos Akadémia Talajtani Intézetében, Havanában végeztük.

Összefoglalás

A Mantanzas tartomány laterit talajából izolált 40 mikroszkopikus gomba közül 22 volt képes a cellulózt elbontani.

A cellulóz elbontása során a tápközegekben felhalmozódó anyagcseretermékek részben gátolják, részben pedig serkentik néhány szabadonélő és szimbiota nitrogénkötő baktérium és algatörzs növekedését, valamint a *Canavalia ensiformis* magvainak csírázását.

A szűrlet serkentő, vagy gátló hatása tekintetében a kísérletbevont algatörzsek növekedése és a *Canavalia ensiformis* csírázása között korreláció figyelhető meg.

Irodalom

- [1] BENNETT, H. H. & ALLISON, R. V.: Los suelos de Cuba. Comision Nacional Cubana de la UNESCO. La Habana. 1962.
- [2] BERSOVA, O. N.: Vlijanie mikroelementov na obrazovanie geteroauxina i degidraznuju aktivnoszt' nekotorih rizoszfernih mikroorganizmov. Tr. Inszt. Mikrobiol. **11**. 301. 1961.
- [3] EMMANILOV, I.: Issledovaniya celluloznih bakterij biosintezirujuscsih vitamin B₁₂. Mikrobiologija **30**. 301. 1961.
- [4] GHEORGHIV, V. & MANUCA, L.: Azotobacter chroococcum (stamm №100) kak producent aukszinopodobnih vescsesztv. 166 p. Bakterial'nye udobrenija. Kolosz. Moszkva. 1964.
- [5] GOTTLIEB, D.: The production and role of antibiotics in the soil. Phytopathol. **42**. 493. 1942.
- [6] GROSSBARD, E.: Production of an antibiotic substance on wheat straw and other organic materials and in the soil. Nature. **161**. 614—615. 1948.
- [7] GROSSBARD, E.: Antibiotic production by fungi on organic manures and in soil. J. Gen. Microbiol. **6**. 295—310. 1952.
- [8] KRASZIL'NIKOV, N. A.: Obrazovanie i nakoplenie antibioticeszkih vescsesztv v pocve. DAN SSSR. **94**. 957—960. 1954.
- [9] KRASZIL'NIKOV, N. A.: Mikroorganizmü pocsvü i vüszsie rasztenija. Izd. AN SSSR. Moszkva. 1958.
- [10] KORENJAKO, A. I., ARTOMONOVA, O. I. & LETUNOVA, Sz. V.: Obrazovanie i szohranenie antibioticeszk'h vescsesztv aktinomycetov v pocve. Mikrobiologija **24**. 550. 1955.
- [11] KOSAY, HATA: Studies on plant growth accelerating substances. I. The isolation method of soil microbes which produce plant growth accelerating substances. Agricultural and Biological Chemistry. **26**. 278. 1962.
- [12] MARBUT, C. F.: Soil genesis and classification. Soil Sci. Soc. Amer. Madison. 1928.
- [13] PÁNTOS, Gy.: A búza és kukorica gyökérfelületi zónájában uralkodó egyes baktériumok vitaminszintetizáló képessége. Agrokémia és Talajtan. **10**. 511. 1961.
- [14] PARKER-RODES, A.: Preliminary experiments on the estimation of traces of heteroauxin in soil. J. Agron. Sci. **30**. (No. 4) 1940.
- [15] PEJVE, J. V.: Biohimija pocsv. Szel'hozgiz. Moszkva. 1961.
- [16] POPOVA, T. J.: Nekotorie zakonomernoshti vlijaniya kornevoj mikroflori vinograda na ego razvitija. DAN Űzb. SSR. **7**. 53. 1954.
- [17] SCHMIDT, E. & STARKEY, R. L.: Soil microorganisms and plant growth substances. II. Transformations of certain B-vitamins in soil. Soil Sci. **71**. 221—231. 1951.
- [18] SZEGI, J.: A különböző növényi anyagok hatása néhány B csoportoz tartozó vitamin szintézisére a talajban. Agrokémia és Talajtan **15**. 523—532. 1966.
- [19] SZEGI, J. & GULYÁS, F.: Egyes cellulóz-bontó mikroorganizmusok anyagcseretermékeinek hatása az Azotobacter légzésére, valamint a lucernamagvak csírázására. Agrokémia és Talajtan **12**. 99—106. 1963.
- [20] SZEGI, J. & GULYÁS, F.: Adatok egyes vitaminoknak a talajban történő felhalmozódásához Agrokémia és Talajtan **13**. 281—286. 1964.

- [21] SZEGI, J. & TIMÁR, E.: Szintez sztimulirujuscsih i tormozjascsih vcseszstv otdeľ' nūmi cellulozorazlagajuscsimi mikroorganizmami. *Agrokémia és Talajtan* **13**. Suppl. 79-86. 1964.
- [22] SZMALIJ, V. T. & BERSOVA, O. N.: Utoravenija geteroauxinu v asszociativnūh kul'turah azotobaktera. *Mikrobiol. Zs.* **4**. 16. 1954.

Érkezett: 1965. augusztus 1.

Effect of Cellulose Decomposing Fungi on some Microorganisms and on the Growth of the Legume *Canavalia ensiformis*

J. SZEGI and M. RODRIGUEZ

Research Institute of Soil Science and Agricultural Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences Budapest,
Institute of Soil Science of the Cuban Academy of Sciences, Havana

Summary

It was studied which way the metabolic products of 22 cellulose decomposing fungus strains influence the growth of some nitrogen binding bacteria and algal strains as well as the germination of the seeds of the legume *Canavalia ensiformis*. The fungi included in the experiment were cultivated from the tilled layer of the laterit soil of the province Mantanzas in the Republic of Cuba. The soil referred to was ranged on the basis of the series system of Marbut, by BENNETT and ALLISON in the Perico series of the Truffin family.

The examined fungus strains, which belonged to different genera (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Verticillium*, *Fusarium*, *Humicola*, *Triospora*, etc.) were cultivated in liquid moor soil of mineral composition containing 1 per cent chopped cellulose. After 100 day incubation conducted in 30° C thermostat the amount of cellulose remaining in the nutrient solution was determined.

The culture liquid was sterilized by filtration on the Seitz EK filter and thus utilized for the purposes of further examinations. Sterilization in the cold way was necessary to protect the active agents of the cultural liquid from inactivation which may be caused by sterilization with heat.

The effect of metabolic products arising in the course of cellulose mineralization on the growth of the strain № 12 of *Azotobacter chroococcum*, 8 different rhizobia and 3 algal strains was determined with the hole test method. To establish the effect of the active agents of the filtrates on the germination of *Canavalia ensiformis* the following method was used. The seeds were sterilized with 70 per cent alcohol by 1 minute alcoholic treatment. The sterile seeds were soaked for 24 hours in the sterile filtrate of the culture liquid of various fungi and then germinated in Petri dishes for 72 hours. Subsequently the length of the germs was determined and the conclusions were drawn from the mean of 25 germs.

The results of the examinations indicate that the metabolic products of various fungi to a major or minor extent influence both the growth of the microorganisms and the germination of the seeds of *Canavalia ensiformis*. Some exercise a stimulating, others an inhibiting effect.

The synthesis of stimulating and inhibiting substances as well as their effect, similarly as any chain-link of the metabolism of microorganisms, is fundamentally influenced by environmental conditions; therefore laboratory examinations yield but relative results and can not be completely identical with the processes taking place in the soil. In spite of that there is sufficient ground to assume that in nature, as a consequence of the breakdown of plant residues, various stimulating and inhibiting substances may accumulate influencing the growth both of soil microorganisms and higher plants.

Authors also observed that the effect of the culture liquid containing the metabolic products on the development of algae and on germination of the seeds of *Canavalia ensiformis* is similar.

Table 1. Data of the most important chemical and physical features of the soil sample used for microbiological analysis. (1) Humus per cent. (2) Total nitrogen per cent. (3) Available nitrogen. (4) Hygroscopicity. (5) Plasticity. (6) Hydrolytic acidity. (7) Moisture content, per cent. (8) Porosity, per cent. (9) Field capacity, per cent.

Table 2. The growth of some nitrogen binding bacteria as affected by the metabolic products of cellulose decomposing fungi. (1) Denomination of fungi. (2) Denomination of test bacteria; + stimulating zone, — inhibiting zone, 0 no effect.

Table 3. The growth of some algal species as affected by the metabolic products of cellulose decomposing microscopic fungi. (1) Denomination of fungi. (2) Denomination of algae; + stimulation, — inhibition, 0 no effect.

Figure 1. Stimulating effect of the products of cellulose-decomposing fungi on Rhizobium strain № 1.

Figure 2. Inhibition effect of the products of cellulose-decomposing fungi on Azotobacter chroococcum № 8.

Figure 3. The effect of the filterates of cellulose-decomposing fungi on the germination of the seeds of Canavalia ensiformis.

Influencia de hongos celulolíticos sobre el desarrollo de algunos microorganismos y sobre la planta leguminosa de Canavalia uniformis

J. SZEGI y M. RODRIGUEZ

Instituto de Suelos y Agroquímica, de la Academia de Ciencias de Hungría, Budapest e Instituto de Suelos de la Academia de Ciencias de Cuba, La Habana

Resumen

Los autores examinaron la influencia de los productos metabólicos de 22 cepas de hongos que descomponen la celulosa, sobre el crecimiento de algunas bacterias así como sobre la germinación de semillas de la planta leguminosa Canavalia ensiformis. Hemos producido los hongos del experimento en la capa arada del suelo laterítico de la provincia Mantanzas en la República de Cuba. Según BENNETT y ALLISON, el suelo mencionado, a base de „series” por Marbut se clasifica al serie Perico y familia Truffin.

Los hongos examinados que pertenecen a distintos géneros (Aspergillus, Penicillium, Verticillium, Fusarium, Humicola, Trispora, etc.) fueron cultivados en medio de cultivo líquido de composición mineral, conteniendo 1% de celulosa desmenuzada. Después de una incubación de 100 días en termóstato de 30 °C se determinó el residuo de celulosa no utilizada en la solución de cultivo.

La solución de cultivo fue esterilizada por filtración a través de filtro Seitz E.K. y empleada así para los ensayos ulteriores. Como consecuencia de la esterilización en condiciones frías, los agentes activos de la solución de cultura no se inactivan y permanecen inalterables.

La influencia de los productos metabólicos sintetizados por la mineralización de la celulosa ejercida sobre el desarrollo de la especie de Azotobacter chroococcum cepa No.12 de 8 cepas de Rhizobium y de tres especies de algas fué determinada con el método de difusión. La influencia de los agentes activos de los filtrados sobre la germinación de semillas de la Canavalia ensiformis fue determinada por el método siguiente. Las semillas se esterilizaron con alcohol de 70% durante un minuto. Luego, las semillas esterilizadas se pusieron en el filtrado estéril de la solución de cultura de diferentes hongos durante 24 horas, después, se hicieron germinar en placa de Petri durante 72 horas. Entonces, determinaron la longitud de los gérmenes, habiendo realizado las conclusiones del promedio de 25 gérmenes.

Los datos de las ensayos demuestran que los productos metabólicos de los hongos diferentes ejercen influencia mayor o menor tanto sobre el crecimiento de los microorganismos que sobre la germinación de las semillas de la Canavalia ensiformis. Unos estimulan y otros inhiben el desarrollo de los microorganismos.

La síntesis de las materias estimulantes e inhibidores, así como el efecto de los mismos, análogamente a cualquier eslabón del metabolismo de los microorganismos, están influenciados básicamente por las condiciones ambientales. Por consecuencia, los ensayos de laboratorio dan sólo resultados relativos, que no se pueden identificar completamente con los procesos realizándose directamente en el suelo; sin embargo, hay bases para suponer que, en la naturaleza, como resultado de la descomposición de los residuos vegetales,

se acumulan distintos productos estimulantes e inhibidores que pueden tener influencia sobre el desarrollo de los microorganismos del suelo y de las plantas superiores.

Al mismo tiempo, los autores observaron que la solución de cultura, conteniendo los productos del metabolismo, influye parecidamente sobre el desarrollo de las algas y sobre la germinación de semillas de la *Canavalia ensiformis*.

Table 1. Datos de las principales calidades químicas y físicas de la muestra de suelo utilizada para el análisis microbiológico. (1) Humus, % (2) Nitrógeno en total (3) Nitrógeno asimilable, (4) Higroscopicidad (5) Plasticidad (6) Acidez hidrolítica, (7) Humedad natural % (8) Porosidad % (9) Capacidad del campo %.

Tabla 2. Influencia de los productos del metabolismo de los hongos celulolíticos sobre el desarrollo de algunas bacterias fijadoras del nitrógeno. (1) Denominación de los hongos (2) Denominación de las test-bacterias, + = zona estimulante, — = zona inhibidor, 0 = no hay influencia.

Tabla 3. Influencia de los productos del metabolismo de los hongos celulolíticos microscópicos sobre el desarrollo de algunas especies de algas (1) Denominación de los hongos (2) Denominación de las algas.

Figura 1. La influencia estimulante de los productos metabólicos de los hongos celulolíticos sobre el crecimiento de *Rhizobium* sp. No. 1.

Figura 2. La influencia inhibitante de los productos metabólicos de los hongos celulolíticos sobre *Azotobacter chroococcum* No. 8.

Figura 3. La influencia que ejercen los filtrados procedentes del medio de cultivo de los hongos celulolíticos sobre la germinación de las semillas de *Canavalia ensiformis*.

Влияние целлюлозо разрушающих грибов, на рост некоторых микроорганизмов и бобового растения *Canavalia ensiformis*

И. СЕГИ и М. РОДРИГЕС

Научно-исследовательский институт почвоведения и агрохимии А. Н. Венгрии, Будапешт и Почвенный институт Академии Наук Кубы, Гаванна

Резюме

В своей работе авторы исследовали влияние продуктов обмена веществ 22-х штаммов в целлюлозо разрушающих грибов на рост некоторых азотофиксирующих бактерий микштаммов водорослей, а также на прорастание семян бобового растения *Canavalia ensiformis*. Грибки использованные в опытах выделяли из пахотных горизонтов латеритных почв провинции Матазас Республики Кубы. Вышеупомянутая почва на основе системы серий Marbut-a, Bennett и Allison отнесли к Perico серий семейства Truffin.

Исследованные штаммы грибов принадлежащие к различным родам (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Verticillium*, *Fusarium*, *Humicola*, *Triospora*) выращивали на жидкой питательной среде содержащей 1% измельченной целлюлозы. После 100 дневной инкубации, которая проводилась в термостате при температуре 30° С, определили содержание оставшейся в питательной среде целлюлозы.

Питательный раствор стерилизовался фильтрованием на фильтре Seitz ЕК и после этого использовался для дальнейших исследований. Холодная стерилизация была необходима для того, чтобы уберечь от инактивации действующее вещество питательных сред, что вызывается горячей стерилизацией.

Определили методом луночных тест-проб влияние продуктов обмена, веществ возникающих в результате минерализации целлюлозы, на рост *Azotobacter chroococcum* штамм №12 8-ми различных штаммов клубеньковых бактерий и 3-х штаммов водорослей. Для определения влияния действующего вещества фильтрата на прорастание семян *Canavalia ensiformis* применяли тот же метод. Семена стерилизовались 70%-м этиловым спиртом в течение одной минуты. Стерильные семена замачивались 24 часа в стерильном фильтрате питательных сред различных грибов, затем проращивали их в течение 72-х часов в чашках Петри. Далее, определяли длину проростка, выводы делались исходя из данных, относящихся к 25 проросткам.

Данные исследований показали, что продукты обмена различных грибов в большей или меньшей мере влияли как на рост отдельных микроорганизмов, так и на прорастание семян *Canavalia ensiformis*.

В первом случае оказывали стимулирующее, во-втором случае — тормозящее влияние.

Синтез стимулирующих и тормозящих веществ в равной мере, как любое звено в обмене веществ микроорганизмов, испытывает влияние окружающих условий, поэтому лабораторные исследования дают только относительные результаты и полностью не однозначны с процессами протекающими в почве, но все же в противовес этому, имеется основание предполагать, что при разложении растительных остатков в природе происходит накопление стимулирующих и тормозящих веществ, которые оказывают влияние как на микроорганизмы, так и на рост высших растений.

Авторами отмечалось также, что питательные среды, содержащие продукты обмена веществ оказывали одинаковые влияния на рост водорослей и прорастание семян *Canavalia ensiformis*.

Табл. 1. Основные данные химических и физических свойств почв использованных в целях микробиологического анализа. (1) Гумус в %. (2) Общий азот в %. (3) подвижный азот. (4) Гигроскопическая влажность. (5) Пластичность почвы. (6) Гидролитическая кислотность. (7) Влажность в %. (8) Порозность в %. (9) Полевая влагоемкость в %.

Табл. 2. Влияние продуктов обмена веществ целлюлозаразрушающих грибов на рост некоторых азотфиксирующих бактерий. (1) Название грибка. (2) Название тест-бактерий. + зона стимуляции. — зона торможения. 0 — влияния не наблюдалось.

Табл. 3. Влияние продуктов обмена целлюлозаразрушающих микроскопических грибов на рост нескольких штаммов водорослей. (1) Название грибов. (2) Название водорослей. + стимуляция, — торможение, 0 — влияния не наблюдалось.

Рис. 1. Стимулирующее влияние продуктов обмена веществ целлюлозоразрушающих грибов на рост *Rhizobium* штамм № 1.

Рис. 2. Тормозящее влияние продуктов обмена веществ целлюлозоразлагающих грибов на рост *Azotobacter chroococcum* штамм № 8.

Рис. 3. Влияние культуральной жидкости целлюлозоразлагающих грибов на прорастание семян *Canavalia ensiformis*.